

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-344378

(43)Date of publication of application : 03.12.2003

(51)Int.Cl. G01N 30/88  
 B01D 15/00  
 B01J 20/10  
 B01J 20/14  
 B01J 20/20  
 B01J 20/28  
 G01N 1/10  
 G01N 30/04  
 G01N 30/48  
 // G01N 30/26  
 G01N 30/72

(21)Application number : 2002-160210

(71)Applicant : EBARA CORP

(22)Date of filing : 31.05.2002

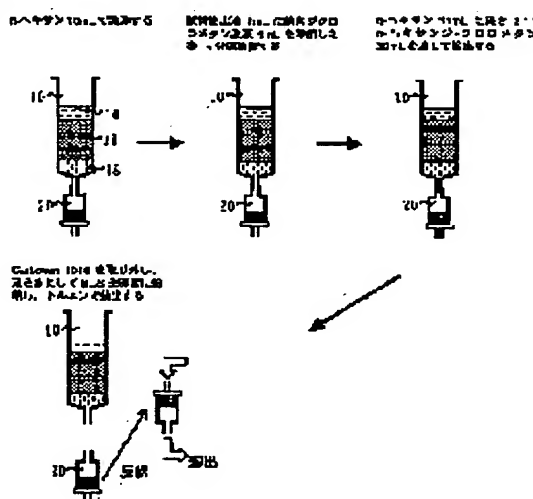
(72)Inventor : KENMOCHI YUKIO  
 TSUTSUMI KAORI

## (54) PRETREATING COLUMN AND METHOD FOR ANALYZING DIOXINS

## (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide an effective method of speedily, simple, and inexpensively pretreating an analysis sample for the analysis of dioxins while maintaining a high recovery rate with satisfactory reproducibility, and to provide a pretreating column for analyzing dioxins for implementing the method.

SOLUTION: A diatomaceous earth column 10 having a silica gel layer 14, a sulfuric diatomaceous earth layer 16, and a polarity carrier layer 18 is connected to an active carbon column 20. By making a sample to be analyzed and a solvent flow down through the diatomaceous earth column 10 and making impurities adsorbed in the diatomaceous earth column 10, the dioxins are eluted into the active carbon column 20. The active carbon column 20 is inverted to make the solvent flow down to elute the dioxins.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 20.01.2004

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 18.10.2005

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

BEST AVAILABLE COPY

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision  
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (J P)

## (12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003-344378

(P2003-344378A)

(43)公開日 平成15年12月3日(2003.12.3)

| (51)Int.Cl. <sup>7</sup> | 識別記号  | F I           | テーマコード(参考)        |
|--------------------------|-------|---------------|-------------------|
| G 0 1 N 30/88            |       | G 0 1 N 30/88 | C 2 G 0 5 2       |
| B 0 1 D 15/00            | 1 0 1 | B 0 1 D 15/00 | 1 0 1 A 4 D 0 1 7 |
| B 0 1 J 20/10            |       | B 0 1 J 20/10 | D 4 G 0 6 6       |
| 20/14                    |       | 20/14         |                   |
| 20/20                    |       | 20/20         | A                 |

審査請求 未請求 請求項の数10 O L (全 17 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2002-160210(P2002-160210)

(22)出願日 平成14年5月31日(2002.5.31)

(71)出願人 000000239

株式会社荏原製作所

東京都大田区羽田旭町11番1号

(72)発明者 齋持 由起夫

東京都大田区羽田旭町11番1号 株式会社  
荏原製作所内

(72)発明者 堤 かおり

東京都大田区羽田旭町11番1号 株式会社  
荏原製作所内

(74)代理人 100089705

弁理士 社本 一夫 (外6名)

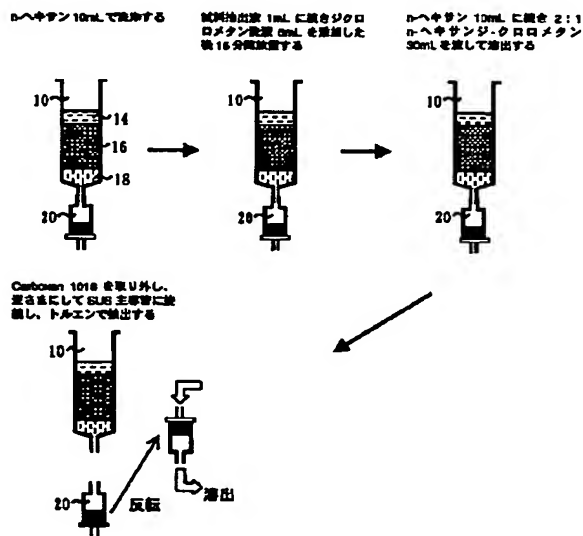
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ダイオキシン類分析用前処理カラム及びダイオキシン類分析前処理方法

## (57)【要約】

【解決課題】 迅速、簡便且つ安価に、再現性よく、高い回収率を維持しながら、ダイオキシン類分析に供する分析試料の効果的な前処理方法及びこの方法を実施するためのダイオキシン類分析用前処理カラムを提供する。

【解決手段】 シリカゲル層14、硫酸珪藻土層16及び極性担体層18を有する珪藻土カラム10と、活性炭カラム20とを接続させる。珪藻土カラム10にダイオキシン類含有被分析試料及び溶媒を流下させて、珪藻土カラム10に夾雑物を吸着させ、ダイオキシン類を活性炭カラム20に溶出させる。活性炭カラム20を反転させて溶媒を流下させ、ダイオキシン類を溶出させる。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 珪藻土に硫酸を保持させてなる硫酸珪藻土層を含有する珪藻土カラムを含むダイオキシン類分析用前処理カラム。

【請求項2】 前記硫酸珪藻土層は、珪藻土カラム保持容量の70～90容積%の硫酸を保持してなる請求項1に記載のダイオキシン類分析用前処理カラム。

【請求項3】 前記珪藻土カラムは、さらに、硫酸珪藻土層の上流側に配設されたシリカゲル層を含む、請求項1又は2に記載のダイオキシン類分析用前処理カラム。

【請求項4】 前記珪藻土カラムは、さらに、硫酸珪藻土層の下流側に配設された有機物を吸着する極性担体層を珪藻土カラム保持容量の少なくとも10容積%の量で含む、請求項1～3のいずれか1項に記載のダイオキシン類分析用前処理カラム。

【請求項5】 さらに、前記珪藻土カラムの下流側に、該珪藻土カラムに脱着自在な活性炭カラムを含む請求項1～4の何れか1項に記載のダイオキシン類分析用前処理カラム。

【請求項6】 前記活性炭カラムは、ポアサイズが2nm未満のミクロポアを実質的に含まず、ポアサイズ2～50nmのメソポアを0.1mL/g以上含む活性炭カラムである請求項5に記載のダイオキシン類分析用前処理カラム。

【請求項7】 珪藻土が充填されている珪藻土カラムと、該珪藻土カラムに脱着可能な活性炭カラムと、を結合させ、珪藻土カラムに充填されている珪藻土に、珪藻土の底部にまでは到達しない量の硫酸を添加して、硫酸を保持してなる硫酸珪藻土層を形成させ、硫酸珪藻土層の上に、シリカゲルを添加して、シリカゲル層を形成させることからなるダイオキシン類分析用前処理カラムの調製方法。

【請求項8】 ダイオキシン類含有被分析試料を、珪藻土に硫酸を保持させてなる硫酸珪藻土層を含有する珪藻土カラムを含むダイオキシン類分析用前処理カラムに導入させることを含むダイオキシン類含有被分析試料前処理方法。

【請求項9】 ダイオキシン類含有被分析試料を、シリカゲル層、珪藻土に硫酸を保持させてなる硫酸珪藻土層、有機物を吸着する極性担体層、及びポアサイズが2nm未満のミクロポアを実質的に含まず且つポアサイズ2～50nmのメソポアを0.1mL/g以上含む活性炭層に順次導入させることを含むダイオキシン類含有被分析試料前処理方法。

【請求項10】 溶媒の流量を制御する流量制御手段を具備する溶媒槽と、溶媒を加熱する恒温槽と、恒温槽で加熱された溶媒を被供給対象物に供給する溶媒供給ステーションと、該溶媒槽と該恒温槽の間に設けられ、溶媒を流通させる

主導管と、

該恒温槽上流側外部で該主導管に接続しており、該恒温槽下流側外部で該溶媒供給ステーションに接続している耐食性・耐圧性・耐熱性材料からなる1以上の副導管と、を備える自動送液装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、ダイオキシン類分析のための迅速精製法に関する。特に、本発明は、ダイオキシン類分析に供する分析試料の前処理方法に関する。

【0002】

【従来の技術】ダイオキシン類とは、非常に毒性の強い塩素化芳香族炭化水素に属する化合物であり、代表的な化合物として、ポリクロロジベンゾ-p-ジオキシン(PCDD)、ポリクロロジベンゾフラン(PCDF)及びコブラナーPCBなどがある。

【0003】環境雰囲気中に含まれるダイオキシン類の定性・定量分析は、通常、ガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)で行われている。この際、環境雰囲気から採取した分析試料中に含まれるダイオキシン類は極微量(ppb～ppqレベル)であり、分析値に影響を与える夾雑物が大量に存在しているため、予め分析試料を前処理して、夾雑物の含有量を低減させるべく前処理を行う必要がある。また、ダイオキシン類には、多数の異性体があり、ダイオキシン類の抽出と精製工程を必要とし、これらの工程に時間がかかるという問題がある。

【0004】例えば、環境雰囲気中に含まれるダイオキシン類の分析方法としては、硫酸処理と活性炭カラムを組み合わせた「排ガス中のダイオキシン類及びコブラナーPCBの測定方法(JIS K0311)」(1999年)がある。

【0005】JIS法(K0311:1999)における被分析試料の前処理は、図1に示すように、採取した試料に内標準物質を添加した(クリーンアップスパイク)後、濾紙、樹脂、吸収液等の形態ごとに抽出し、これらの抽出液を合わせた後、必要に応じて分取し、硫酸処理シリカゲルカラムクロマトグラフ操作又は多層シリカゲルクロマトグラフ操作を行ってダイオキシン類測定用試料とコブラナーPCB測定用試料とに分け、さらに各試料についてアルミナカラムクロマトグラフ操作を行い、さらに必要に応じて高速液体クロマトグラフ操作などによって精製し、得られた試料に、内標準物質を添加した(シリンスパイク)後に、ガスクロマトグラフ質量分析法によって測定する。このようにシリカゲルクロマトグラフ及びアルミナカラムクロマトグラフの2段階精製が必要となるので、高精度に前処理を行うことができるが、前処理操作が煩雑で時間がかかり、高価で複雑な高速液体クロマトグラフ装置を必要とするという問題がある。さらに、分析作業に熟練が必要であるから作業員間で結果にばらつきがあること、精製操作に1週間以上を必要とす

ること、多量の試薬及び溶媒を必要とするので費用がかかり試薬の保管や作業に広い作業面積を要すること、高速液体クロマトグラフ装置を用いる分析では濃度差が大きい試料を同時分析する際にクロスコンタミネーションが生じ正確な分析ができないこと、などの問題がある。

【0006】そこで、時間を短縮し、溶媒の使用量を減少させることを目的とするJIS法を改良した松村ら（兵庫県立公害研究所）の方法（第8回環境化学討論会要旨集、202-203（1999））が提案されている。

【0007】松村らの方法は、当該技術分野で慣用されている多層シリカゲルカラムと、コブラナー型PCB分画用カーボンカラム「Carboxen 1000 Reversing Tube（Sigma-Aldrich製）」（以下、「カーボンカラム」と略す）とを組合せるものである。具体的には、多層シリカゲルカラムの上流側に溶媒リザーバを接続し、多層シリカゲルカラムの下流側にカーボンカラムを接続して、溶媒リザーバにヘキサン10～20mLを流しコンディショニングした後、サンプルを負荷し、ヘキサン50mLを流速3～4mL/minで流して、カーボンカラムに溶出液を捕集する（分画1）。次に、多層シリカゲルカラムを外して、溶媒リザーバとカーボンカラムとを直接接続して、溶媒リザーバにジクロロメタン／n-ヘキサン＝20/80を流速3～4mL/minで60mL流して、カーボンカラムに溶出液を捕集する（分画2）。次に、カーボンカラムを溶媒リザーバから外して、再度、カーボンカラムを逆向きに溶媒リザーバに取り付け、トルエン80～100mLを流速1～2mL/minで流して、溶媒リザーバに溶出液を捕集する（分画3）。得られた溶出液を10mLずつ分取して、1mLに濃縮した後、HPLC/HRMSで定量を行う方法である。

【0008】しかし、実試料に対する硫酸処理の効果や、添加量に対する回収率が不明であり、要旨集のグラフからは80mLのトルエン（室温）による溶出ではダイオキシン類の溶出がだらだらと続き、溶出が不十分であることが判り、さらにコブラナーPCBがカラム内に残存してしまうので、以後のカラム管理が非常に大変になることがわかる。また、ダイオキシン類二次汚染防止という観点からも、ダイオキシン類の溶出がだらだらと続くことは好ましくない。このような松村らの方法は、JIS法の簡易代替前処理方法としてはあまり実用的ではないと思われる。すなわち、松村らの方法では、硫酸処理効率が不十分であること、ランニングコストが高いこと、ダイオキシン類の回収率が不十分であること、などの問題がある。

【0009】また、ダイオキシン類分析の前処理に用いられている活性炭カラムは、ダイオキシン類に対する保持力が強いので精製効果が高い一方で、回収率が低く、夾雑物の溶出が高いという欠点を有する。そこで、従来は、活性炭の種類に応じて、効果で複雑な高速液体クロマトグラフ装置を組んだり（Hypercarb: Thermo Hypersil-Keystone社製使用時）、70℃に加熱したトルエンを1

00mL流したり（Envicarb C: Sigma-Aldrich製使用時）、50%前後の回収率で妥協したり（Carboxen1000: Sigma-Aldrich製使用時）といった対処療法的な対応がなされているに過ぎない。

【0010】また、ダイオキシン類分析の前処理として、カラムクロマトグラフィー技術が広範囲に用いられているが、当業者には周知のように、カラムクロマトグラフィー技術においては分析対象物質に適した担体の選択が重要である。しかし、ダイオキシン類の場合、多種多様な異性体が共存するので、迅速且つ簡易な前処理に適した担体は、未だ確立されていない。

【0011】

【解決しようとする課題】そこで、本発明は、上述の従来技術の欠点を解消し、JIS法の簡易代替前処理方法として実用的なダイオキシン類分析の前処理方法を提供することを目的とする。すなわち、本発明の目的は、迅速、簡便且つ安価に、再現性よく、高い回収率を維持しながら、ダイオキシン類分析に供する被分析試料の効果的な前処理方法を提供することにある。

【0012】また、本発明の目的は、迅速、簡便且つ安価に、再現性よく、高い回収率を維持しながら、ダイオキシン類の分析に供する被分析試料の効果的な前処理方法を実施するためのダイオキシン類分析用前処理カラムを提供することにある。

【0013】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するべく鋭意研究した結果、本発明者らは、珪藻土を所定量の硫酸で処理してなる硫酸珪藻土層を含む珪藻土カラムに、ダイオキシン類含有被分析用試料を導入させることにより、硫酸珪藻土中に夾雑物を短時間で十分に吸着保持させて、ダイオキシン類含有被分析試料から除去できることを知見した。すなわち、本発明によれば、珪藻土を硫酸で処理してなる硫酸珪藻土層を含有する珪藻土カラムを含むダイオキシン類分析用前処理カラム及びこのダイオキシン類分析用前処理カラムを用いるダイオキシン類含有被分析試料の前処理方法が提供される。

【0014】本発明で用いる珪藻土カラムは、硫酸で処理してなる硫酸珪藻土層を含むカラムである（図2）。この珪藻土カラムは、カラム充填用として市販されている珪藻土をカラムに充填し、珪藻土の上から硫酸を注入するだけで簡単に製作することができる（図3）。本発明の硫酸珪藻土層に用いることができる珪藻土は、粒径が60mesh捕集率で90%以上、100mesh捕集率で95%以上であることが好ましい。また、強熱減量は、1%未満である。珪藻土のカラムへの充填密度は、0.3g/mL程度であることが好ましい。珪藻土の充填量は、分析対象試料の種類及び量により変動させる。例えば、30gの底質試料に対しては約6.3gの珪藻土を用いることができる。

【0015】珪藻土に保持させる硫酸は、JIS K8951に規定するもの、又は同等の品質のものであることが好ま

10

20

30

40

50

しい。硫酸を珪藻土に保持させることにより、ダイオキシン類含有被分析試料の硫酸処理効率を向上させることができる。珪藻土には、生物由来の多数の小さな孔と、担体の間の大きな隙間が存在するが、硫酸はより空間充填密度が高い小さな孔の方により多量に保持される。よって、硫酸を添加した後は、珪藻土の小さな孔と大きな隙間との比率が、硫酸未添加の場合と比較して大きくなっていると考えられる。さらに、硫酸を添加した後は、小さな孔には硫酸が保持されて、孔径がより小さくなっているため、溶媒は相対的に大きな隙間をより多量に流れるようになる。珪藻土カラムに被分析試料を添加した後、所定時間（好ましくは15分程度）放置することにより、被分析試料が珪藻土の小さな孔の奥の方まで浸透させて、珪藻土に保持されている硫酸との接触を高めて、硫酸処理効率を向上させる。しかし、処理効率が高すぎると、試料によっては、夾雑物が珪藻土に保持されずに抽出液中にリークしてしまい、抽出液が粘液状に変質してしまうことがあり、珪藻土カラム処理の後にシリカゲルカラムによる濾過操作が必要になることもある。このような追加の操作は、ダイオキシン類分析試料前処理を迅速且つ簡便に行うにあたって望ましくない。そこで、珪藻土カラム処理後のシリカゲルカラム処理を省略するために、硫酸珪藻土層の処理効率を、夾雑物が硫酸珪藻土層に所定時間保持され且つ抽出液中にリークしない最適な範囲に維持することが望ましい。本発明者らは、この最適な範囲を特定するべく後述する実験を行った結果、本発明で用いる珪藻土カラムは、カラム容量の約70～90容積%の硫酸を保持させてなる硫酸珪藻土層を含むことが好ましく、特にカラム保持容量の約80容積%の硫酸を保持させてなる硫酸珪藻土層を含むことが好ましいことを知見した。ここで、「カラム保持容量」とは、カラム上部から添加した純水がカラム下部からリークすることなく内部に保持可能な最大量を意味する。また、硫酸珪藻土層を構成する珪藻土1gあたりの硫酸添加量は、約0.7～1.8mL、特に約1.42mLが好ましい。

【0016】また、本発明で用いる珪藻土カラムは、硫酸珪藻土層の上流側に配設されたシリカゲル層を含むことが好ましい。シリカゲル層を構成するシリカゲルとしては、カラムクロマトグラフ用シリカゲル（63～212 $\mu$ m）単体、または硝酸銀（10mass%）シリカゲル（カラムクロマトグラフ用シリカゲル100gに対してJIS K8550に規定する硝酸銀で調製した硝酸銀溶液（400g/l）28mLを加えて調製する）などを用いることができる。さらに、これらのシリカゲルに加えて、無水硫酸ナトリウムをシリカゲル層上部に敷いてもよい。

【0017】シリカゲル層を硫酸珪藻土層の上流側に配設することによって、ダイオキシン類含有被分析試料を珪藻土カラムに導入させて前処理を行うに際して、ダイオキシン類含有被分析試料を硫酸珪藻土層に導入させる前にシリカゲル層を通過させることによって、このシリ

カゲル層にダイオキシン類含有被分析試料中の夾雑物を吸着保持させて、ダイオキシン類含有被分析試料から除去することができる。このように、硫酸珪藻土層に通過させる前に、ダイオキシン類含有被分析試料中の夾雑物をシリカゲル層に吸着させて予め除去することによって、硫酸珪藻土層による夾雑物保持容量つまり負荷量を減少させることができる。しかし、硫酸珪藻土層の上流側に配設するシリカゲルの充填量が多すぎると、ダイオキシン類含有被分析試料が下流側にある硫酸珪藻土層と接触するまでに要する時間が長くなる。これは、一定処理時間で比較した場合に、シリカゲルの充填量が多くなるほど、ダイオキシン類含有被分析試料と硫酸珪藻土層との接触時間が短くなり、結果的に硫酸珪藻土層の処理効率が低下することを意味する。そこで、硫酸珪藻土層の上流側に配設するシリカゲルの充填量は、硫酸珪藻土層に通過するダイオキシン類含有被分析試料の夾雑物負荷量を効率良く減少させることができ、且つダイオキシン類含有被分析試料と硫酸珪藻土層との接触時間を十分に保持することができる範囲であることが望ましい。本発明者らは、この最適な範囲を特定するべく後述する実験を行った結果、本発明で用いる珪藻土カラムにおいて、硫酸珪藻土層の上流側に配設するシリカゲル層の充填量は、硫酸珪藻土層に対して約30～80重量%が好ましく、特に約35～70重量%が好ましい。カラム保持容量10mLの珪藻土カラムに約7gの珪藻土を充填した場合に最大約4gであることが好ましく、特に約2gが好ましいことを知見した。

【0018】また、上述のように、硫酸珪藻土層の上流側にシリカゲル層を配設することにより、硫酸珪藻土層に保持した分析用試料を溶媒により溶出させる際の流速を制御することもできるという利点もある。上述のように、珪藻土に添加された硫酸は、より空間充填密度が高い小さな孔の方により多量に保持される。しかし、溶出時の溶媒の流速が早いと、小さな孔の奥まで溶出溶媒が浸透せず、回収率が低下してしまう。そこで、硫酸珪藻土層の上流側にシリカゲル層を配設することにより、溶媒流速を遅くして、硫酸珪藻土層に溶媒を十分に拡散させてチャネリングを抑制することにより、回収率を向上させることができる。ここで、チャネリングとは、珪藻土への硫酸添加量が増加すると、珪藻土に対する硫酸コーティングが不均一になり、硫酸コーティングの薄い部分に幅広の溶媒の流路が発生し、より多量の溶媒が流れる状態をいう。このチャネリングにより、溶媒が硫酸コーティングの薄い部分に流れやすくなるので、硫酸処理珪藻土に保持されている分析用試料中のダイオキシン類との接触効率が低下し、ダイオキシン類の回収率が低下してしまう。したがって、チャネリングを抑制することでは、ダイオキシン類の回収率の低下を防止することでもある。また、流速の制御という面だけをみれば、分析作業者がピペット操作により流速の制御を行うこともでき

るが、作業者間のばらつきをなくし、再現性をよくするという観点から、シリカゲル層の配設により流速を制御することが、より好ましい。

【0019】さらに、本発明のダイオキシン類分析用前処理カラムの珪藻土カラムは、硫酸珪藻土層の下流側に配設された極性担体層を含むことが好ましい。極性担体層は、多環芳香族系有機化合物などの夾雑物を保持することができるので、さらに精製効率を向上させることができる。本発明において用いることができる極性担体層としては、珪藻土、シリカゲル、アルミナ、珪酸マグネシウムなどを充填してなる極性担体層を挙げることができる。特に、カラムへの充填作業効率向上の観点から、珪藻土を用いることが好ましい。また、アルカリ性の珪藻土を用いることにより、JIS法による硫酸処理の後処理として必要なアルカリ処理を施さなくても高効率の後処理を行うことができるという利点もある。珪藻土カラムに充填する極性担体層と硫酸珪藻土層との比率は、極性担体層：硫酸珪藻土層として1：9～3：7の範囲が好ましく、特に2：8が好ましい。

【0020】本発明の珪藻土カラムは、例えば、カラム保持容量が10mLのカラムに7gの珪藻土を充填し、珪藻土の上に硫酸を注入し15分程度放置して珪藻土に硫酸を保持させて、カラム底部の極性担体層と極性担体層の上部に硫酸珪藻土層を形成させ、次いで、珪藻土の上にシリカゲルを充填してシリカゲル層を形成させることによって作製することができる。あるいは、カラムに珪藻土を充填する代わりに、市販の珪藻土充填済みカラム（例えば、商品名：CE-1010（10mL保持容量）；CE-1005（5mL保持容量）、いずれもVarian社製造）を利用することもできる。このような市販の珪藻土充填済みカラムを用いることにより、煩雑で作業者間でばらつきが生じるカラム充填作業を省略することができ、再現性を向上させることができる。

【0021】本発明の珪藻土カラムは、夾雑物を含むダイオキシン類含有被分析試料の硫酸処理効率を高めて精製効率を向上させ、シリカゲルカラムによる濾過操作を省略することができ、迅速に（例えば20分間）、再現性よく、高い回収率で、ダイオキシン類含有被分析試料の前処理を行うことができる。

【0022】また、本発明のダイオキシン類分析用前処理カラムは、さらに、珪藻土カラムの下流側に、この珪藻土カラムに脱着可能な活性炭カラム、特にリバース形カートリッジカラム形態の活性炭カラムを含むことが好ましい。

【0023】活性炭は、ダイオキシン類などの平坦な構造を有する分子を特異的に吸着するという性質を有するので、ダイオキシン類とその他の有機化合物とを分離することができる。しかし、活性炭のダイオキシン類保持力が強すぎると、後の溶出工程において活性炭に保持させたダイオキシン類を溶離回収することが困難になり、

逆に活性炭のダイオキシン類保持力が弱すぎるとダイオキシン類を多量に流出させることになってしまう。そこで、本発明のダイオキシン類分析用前処理カラムに用いる活性炭カラムは、ダイオキシン類と夾雑物との優れた分離能、高いダイオキシン類の溶離回収率、夾雑物の溶出が少ないなどの特性を有することが好ましい。このような活性炭カラムとしては、特にダイオキシン類の各種異性体の分子サイズに適合しないポアサイズを有する活性炭を充填してなる活性炭カラムであることが好ましい。活性炭の吸着のほとんどはミクロポアの二つのグラファイト層の間で起こり、活性炭表面の酸素複合体（oxygen complex）も吸着に影響を与えられている（「Suzuki, M. 1990. Adsorption Engineering, Elsevier, ISBN 0-444-98802-5」参照）。つまり、活性炭を構成するグラファイトの平面構造と、ダイオキシン類及びコプラナPCBの平面構造と、の相互作用、並びに活性炭表面の酸素複合体（oxygen complex）の極性により、選択的な吸着が起こると考えられる。活性炭のポアサイズとダイオキシン類の分子サイズとが近接していると、すなわち、ミクロポアでは、ダイオキシン類が二つのグラファイト層に挟まれるため相互作用が大きくなり、ダイオキシン類が活性炭に非常に強く吸着される。また、ミクロポアは、立体構造上活性炭の細孔の最も奥に位置するため、溶媒の浸透・拡散も悪い。そのため、ひとたびダイオキシン類がミクロポアに吸着されてしまうと、有機溶媒による溶出が非常に困難になる。そこで、本発明者らは、何でも吸着するミクロポアの影響を排除し、一つのグラファイト層との相互作用により、夾雑物を吸着させることなく、ダイオキシン類を選択的に吸着させ、ダイオキシン類の回収率を向上させることができることを知見した。特に、ダイオキシン類の分子サイズの数倍～数十倍の大きさを有するメソポアでは、グラファイト層の間隔が適当に広く、吸着・脱着が円滑に行われることを知見した。これらの知見に基づき、本発明で用いることができる活性炭カラムとしては、ポアサイズが2nm未満のミクロポアを実質的に含まず、ポアサイズ2～50nmのメソポアを0.1mL/g以上含む活性炭カラムを好ましく挙げることができる。特に粒子径60/80メッシュ又は177～250 $\mu$ mの活性炭、好ましくはグラファイトカーボンを、密度0.5g/mL以上、表面積75m<sup>2</sup>/g程度となるように、充填してなる活性炭カラムを好ましく挙げることができる。このように、ダイオキシン類を非常に強く吸着するミクロポアの影響を排除し、活性炭カラム内でダイオキシン類をメソポアに選択的に吸着させることにより、次の溶出工程において活性炭カラムから溶離させやすくなるので、ダイオキシン類の回収率を高め、シャープな分画ピークを得ることができる。このような活性炭カラムとしては、例えば、「Carboxen1016」「Carboxen1017」（Sigma-Aldrich製造販売）など市販の活性炭カートリッジカラムを用いることができる。このような市



販の活性炭カートリッジを用いる場合には、煩雑で作業  
者間のばらつきを生じさせるカラム充填作業を省略する  
ことができ、再現性を向上させることができるという利  
点もある。

【0024】また、本発明のダイオキシン類分析用前処  
理カラムに用いる活性炭カラムは、珪藻土カラムに脱着  
可能なリバース形カートリッジの形態であることが好ま  
しい。リバース形カートリッジとは、流体の流方向を反  
転させることができるカートリッジであり、本発明にお  
いては、最初は珪藻土カラムに取りつけて、珪藻土カ  
ラムからの溶出液を上部の流入口（珪藻土カラム溶出液流  
入口）から受け入れ、活性炭カラム中に充填されている  
活性炭に保持させる。次に、珪藻土カラムから活性炭カ  
ラムカートリッジを取り外して、上下反転させ、溶離液  
を上部の流入口（活性炭カラム抽出溶媒流入口）から導  
入して、活性炭に保持されているダイオキシン類を下部  
の流出口（最初の工程では、珪藻土カラム溶出液流入口  
として作用した口）から溶出させることができるもので  
ある。このような脱着可能なカートリッジ形態とするこ  
とにより、ダイオキシン類を活性炭カラムに吸着保持さ  
せた後で、カートリッジを取り外して、活性炭カラム中  
に吸着保持されているダイオキシン類を溶出させること  
が容易となる。また、リバース形カートリッジの形態と  
することにより、珪藻土カラムから溶出するダイオキシ  
ン類の流入経路と、活性炭カラムから溶出するダイオキシ  
ン類の流出経路とが同じになるので、珪藻土カラムから  
活性炭カラムへと溶出させる際に活性炭カラムの途中  
に吸着保持されているダイオキシン類をも十分に溶出さ  
せることが可能となり、ダイオキシン類の回収率を高め  
ることができる。さらに、リバース形カートリッジの形  
態は、液体流出入経路を一つ設ければ良いので、設計及  
び製造が簡単である。

【0025】このように、本発明のダイオキシン類分析  
用前処理カラムによれば、迅速、簡便且つ安価に、再現  
性よく、高い回収率を維持しながら、ダイオキシン類の  
分析に供する被分析試料の効果的な前処理方法を実施す  
ることができる。これは、従来のJIS法と比較すると、  
①分析作業者の熟練度によらず、ばらつきの少ない測定  
を可能にすること、②精製操作が2日間から2時間と非  
常に短時間に短縮可能であること、③抽出・精製・溶出  
に用いる試薬の使用量が減少し、管理が容易になるこ  
と、④高価で複雑な高速液体クロマトグラムが不要とな  
り、クロスコンタミネーションの危険性が減少するこ  
と、等の利点を奏する。

【0026】また、本発明によれば、ダイオキシン類含  
有被分析試料を、硫酸を保持してなる硫酸珪藻土層を含  
有する珪藻土カラムを含むダイオキシン類分析用前処理  
カラムに導入させることを含むダイオキシン類含有被分  
析試料前処理方法が提供される（図4）。特に、シリカ  
ゲル層、珪藻土に硫酸を保持させてなる硫酸珪藻土層、

有機物を吸着する極性担体層、及びボアサイズが2nm未  
満のマイクロボアを実質的に含まず且つボアサイズ2〜50n  
mのメソボアを0.1mL/q以上含む活性炭層に順次導入させ  
て、ダイオキシン類含有被分析試料から夾雑物を取り除  
くことが好ましい。

【0027】本発明の方法は、図1に示すJIS K0311に  
規定されているシリカゲルカラムクロマトグラフ操作又  
は多層シリカゲルカラムクロマトグラフ操作で行われて  
いた硫酸処理による妨害物除去工程を上述の本発明のダ  
イオキシン類分析用前処理カラムの珪藻土カラムで行  
い、JIS K0311に規定されているアルミナカラムクロマ  
トグラフ操作を省略し、高速液体クロマトグラフ操作を  
上述の本発明のダイオキシン類分析用前処理カラムの活  
性炭カラムで行う点を除いて、JIS K0311に規定のダイ  
オキシン類分析の前処理操作と同様に行うことができ  
る。

【0028】本発明の前処理方法を説明するために、ま  
ずJIS K0311に規定されている前処理方法を概説する。J  
IS K0311では、シリカゲルカラムクロマトグラフ操作と  
して、以下の手順が規定されている。①試料から抽出し  
た抽出液を分取し、濃縮し、窒素気流によってトルエン  
を除去する。②ヘキサンで洗浄し、硫酸を加えて、緩や  
かに振とうし、静置後、硫酸層を除去する。硫酸層の着  
色がうすくなるまでこの操作を繰り返す。③ヘキサン層  
をヘキサン洗浄水で洗浄し、洗液がほぼ中性になるまで  
繰り返し洗浄し、硫酸ナトリウムで脱水後、濃縮する。  
④カラムクロマトグラフ管（内径10mm、長さ300mm）の  
底部に石英ガラスウールを詰め、ヘキサンで管内を洗浄  
し、石英ガラスウール上部までヘキサンを残す。シリカ  
ゲル3gをヘキサン含有ピーカーに計量し、ガラス棒で緩  
やかにかき混ぜて気泡を除き、カラムクロマトグラフ管  
に充填する。ヘキサンを流下させ、シリカゲル層を安定  
させた後、その上に硫酸ナトリウムを載せ、ヘキサンで  
管壁に付着している硫酸ナトリウムを洗い落とす。⑤シ  
リカゲルにヘキサンを流下させた後、液面を硫酸ナトリ  
ウムの上面まで下げ、⑥で調製した溶液をカラムに静か  
に移し入れ、ヘキサンで数回洗い、液面を硫酸ナトリウ  
ム面まで下げ、ヘキサンを滴下させる。⑦溶出液を濃縮  
し、アルミナカラムクロマトグラフ操作の試料液とす  
る。

【0029】あるいは、多層シリカゲルカラムクロマト  
グラフ法として、以下の手順が規定されている。①カ  
ラムクロマトグラフ管（内径15mm、長さ300mm）の底部に  
石英ガラスウールを詰め、シリカゲル0.9g、水酸化カリ  
ウム（2mass%）シリカゲル3g、シリカゲル0.9g、硫酸  
（44mass%）シリカゲル4.5g、硫酸（22mass%）シリカゲ  
ル6g、シリカゲル0.9g、硝酸銀（10mass%）シリカゲル3  
g及び硫酸ナトリウム6gを順次充填する。②ヘキサンを  
流下させた後、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げ  
る。③抽出液を分取し、濃縮し、次いで窒素気流によ



てトルエンを除去し、カラムに静かに注ぎ入れ、液面をカラム上端まで下げる。④ヘキサンで抽出液の容器を洗浄し、洗液はカラム内壁を洗いながら入れる。この操作を2〜3回繰り返す。⑤ヘキサンを滴下させる。⑥溶出液を濃縮し、アルミナカラムクロマトグラフ操作の試料液とする。充填部の着色が多い場合は、①〜⑥の操作を繰り返す。

【0030】次にJIS K0311に規定されているアルミナカラムクロマトグラフ操作を概説する。①カラムクロマトグラフ管（内径10mm、長さ300mm）の底部に石英ガラスウールを詰め、ヘキサンで管内を洗浄し、石英ガラスウール上部までヘキサンを残す。アルミナ10gをヘキサン含有ビーカーに計量し、ガラス棒で緩やかにかき混ぜて気泡を除き、カラムクロマトグラフ管に充填する。ヘキサンを流下させ、アルミナ層を安定させた後、その上に硫酸ナトリウムを載せ、ヘキサンで管壁に付着している硫酸ナトリウムを洗い落とす。ヘキサンを流下させた後、液面を硫酸ナトリウムの上面まで下げる。②シリカゲルカラムクロマトグラフ操作又は多層シリカゲルカラムクロマトグラフ操作によって調製した試料液を静かに移し入れ、ヘキサンで洗い、液面を硫酸ナトリウムまで下げた後、次クロロメタン（2vol%）を含むヘキサン溶液で流して第1画分を得る。③さらにジクロロメタン（50vol%）を含むヘキサン溶液を流して第2画分を得る。④第2画分を濃縮し、さらに窒素気流によって溶媒を揮散除去し、シリンジスパイク用内標準物質を検量線作成用標準液と同濃度となるように添加してノナンを添加し、再度、窒素気流で一定液量にしたものをダイオキシン類の測定用試料とする。

【0031】このようにJIS K0311に規定されている前処理方法においては、シリカゲルクロマトグラフ操作又は多層シリカゲルクロマトグラフ操作と、アルミナカラムクロマトグラフ操作と、を必要とするのであるが、本発明は、この2段階のクロマトグラフ操作をきわめて簡単に1段階で行う前処理方法を提供するものである。

【0032】本発明の前処理方法は、カラム下部から極性担体層、硫酸珪藻土層及びシリカゲル層がこの順番で充填されている珪藻土カラム（カラム保持容量10mL）とマイクロポアを実質的に含まない活性炭カラムとが連結してなる本発明のダイオキシン類分析用前処理カラムに、ダイオキシン類含有被分析試料を導入する。具体的には、図4に示すように、珪藻土カラムと活性炭カラムとを接続させた状態で珪藻土カラム上部からn-ヘキサン10mLを導入してn-ヘキサンによる洗浄を行った後、珪藻土カラムにダイオキシン類含有被分析試料1mLを添加し、次にジクロロメタン洗液5mLを添加し、15分間放置する。次に、珪藻土カラムにn-ヘキサン10mLを添加し、さらにn-ヘキサンとジクロロメタンとの混合液（2：1）30mLを流す。こうして、被分析試料中の夾雑物を珪藻土カラム内に保持させて分離し、ダイオキシン類を活性炭カ

ラムに溶出させる。活性炭カラム内では、ダイオキシン類が活性炭に吸着保持され、被分析試料中に含まれている夾雑物は流下して、活性炭カラムから排出される。次に、活性炭カラムを珪藻土カラムから取り外して上下逆さまにして後述する自動送液システムの溶媒供給ステーション（副導管のルーアー口アダプタ）に取り付け、溶離液（温トルエン）を供給して、活性炭カラムからダイオキシン類を含む画分（ダイオキシン類分析に供する被分析試料）を溶出させる。なお、温トルエンの温度は、40〜55℃の範囲、好ましくは45〜50℃の範囲である。

【0033】なお、本発明のダイオキシン類含有被分析試料の前処理方法において用いることができる溶媒は、慣用されている溶媒を用いることができる。例えば、n-ヘキサン、n-ヘプタン、n-オクタン、n-ノナン及びn-デカン、ジクロロメタン、及びこれらの混合物を好ましく挙げることができる。また、活性炭カラムからの溶出に用いる溶媒としては、アルキルベンゼン：トルエン、キシレン及びこれらの混合物を好ましく挙げることで、特に約40〜55℃の温トルエンが好ましい。具体的には、溶媒組成を調整するため、最初に前処理カラムをヘキサンで飽和させることが好ましい。次いで、洗浄効率及び溶出効率向上のために、極性の高い溶媒、例えばヘキサン-ジクロロメタン混合溶液（2：1）を流下させることが好ましい。ヘキサンとジクロロメタンとの混合比率は、分析目的に応じて変動するが、約3：1〜1：1の範囲が好ましい。次いで、活性炭カラムへの溶出時には、ヘキサンを流下させることが好ましい。最後に、活性炭カラムからのダイオキシン類の溶出には、トルエン、特に50℃程度の温トルエンを溶離液として用いることが好ましい。

【0034】本発明の前処理方法によれば、シリカゲル層で夾雑物の一部を除去して下流側の硫酸珪藻土層の負荷を軽減させているので、硫酸処理効率が向上する。さらに硫酸処理された被分析試料を極性担体層にそのまま流下させて導入することで多環芳香族系有機化合物などの夾雑物を吸着除去できるので、さらに精製効率を向上させることができる。また、ポアサイズが2nm未満のマイクロポアを実質的に含まず且つポアサイズ2〜50nmのメソポアを0.1mL/g以上含む活性炭カラムを用いているので、ダイオキシン類を選択的に吸着させて夾雑物と分離させ、吸着させたダイオキシン類を容易に溶出させることができるので、回収効率を向上させることができる。特に、本発明のダイオキシン類含有被分析試料前処理カラムを用いて行う前処理方法では、全ての工程を1個の前処理カラムで行うことができるので、前処理作業が非常に容易になり、前処理時間を非常に短縮することができる。

【0035】また、本発明によれば、溶媒の流量を制御する流量制御手段を具備する溶媒槽と、溶媒を加熱する恒温槽と、恒温槽で加熱された溶媒を被供給対象物に供

給する溶媒供給ステーションと、該溶媒槽と該恒温槽の間に設けられ、溶媒を流通させる主導管と、該恒温槽上流側外部で該主導管に接続しており、該恒温槽下流側外部で該溶媒供給ステーションに接続している耐食性・耐圧性・耐熱性材料からなる1以上の副導管と、を備える自動送液装置が提供される(図5)。本装置は、ダイオキシン類含有被分析試料の前処理方法における活性炭カラムからの溶出工程において有利に用いることができる。すなわち、本装置を用いて、活性炭カラムに吸着保持されているダイオキシン類を溶出させる際に用いる溶離液を定量的に且つ安全に供給することができる。以下、図5を参照しながら、具体的に説明する。

【0036】自動送液システム100は、図5に示すように、溶媒ボトル112と送液ポンプ114とを組み込んだ溶媒槽110、溶媒槽110から恒温槽120まで溶媒を送液する主導管130、溶媒を加熱する恒温槽120、恒温槽120内部で主導管130から各活性炭カラム20まで溶媒を送液する副導管140、主導管130から副導管140へ溶媒を分液するスプリッタ132及びスプリッタ132の下流側に設けられ溶媒を必要とする活性炭カラム数に応じて開閉するストップコック134、各副導管140から各活性炭カラム20に溶媒を注入するルアー口アダプタ150を含む。主導管130、スプリッタ132及びストップコック132は、恒温槽120の上流側外部に位置づけられており、恒温槽120の外部で各副導管140と接続されている。恒温槽120内部では、副導管を継ぎ目のない状態にしてリークを防止し、トルエンなどの可燃性溶媒の加熱を安全に行えるようにする。溶媒槽110から恒温槽120入口までの主導管130はポリエーテルエーテルケトン(PEEK)製であってもよいが、恒温槽120出口からルアー口アダプタ150までの副導管140はSUS製であることが必要である。PEEK製であると、恒温槽120で加熱された溶媒が冷却してしまい好ましくない。SUS製にすると、恒温槽120内部で加熱された副導管140そのものからも溶媒に熱を伝えることができ且つ恒温槽120外部での副導管140の適度な空冷により活性炭カラム20のブラステック部分にはあまり熱が加わることがない。例えば、恒温槽120外部のSUS導管長さが15cmの場合には、恒温槽120を70℃に設定すると、実験室雰囲気で送液される溶媒(ここではトルエンが好ましい)の温度は45℃程度になる。

【0037】このような自動送液システムを用いて溶離液を供給することにより、従来の態様であるカラム全体を加熱する場合に生じるコネクタ部分の膨張による溶離液リークの問題を引き起こすことなく、溶離液だけを加熱して、活性炭カラムに保持されているダイオキシン類を少量の溶媒で溶出させることができる。このことは、ダイオキシン類など活性炭カラムから溶離させる際に可燃性溶媒であるトルエンを加熱して用いる必要がある場合など、トルエンの取扱いが非常に安全になるので、特に有利である。また、前処理作業開始前に、この自動送

液システムを用いて、本発明の前処理カラムに用いる活性炭カラムを予め加熱した溶媒(好ましくは50℃に加熱したトルエン)で洗浄することで、ダイオキシン類特別対策措置法に対応した0.2pg以下の定量下限値を達成することもできる。すなわち、このような自動送液システムは、活性炭カラムに対して、所望量の溶媒を所望温度で安全に供給できるので、溶媒温度の均一化、溶媒供給量の自動制御、溶媒供給速度の自動制御などを達成でき、溶媒を安全に取り扱うことができ、作業者による前処理効率のばらつきを回避し、作業時間の短縮に寄与する。また、この自動送液システムを用いて、活性炭カラムを使用前に加熱した溶媒(トルエン)で洗浄することによって、活性炭カラムのバックグラウンドノイズを減少させることもできる。尚、この自動送液システムをダイオキシン類分析用前処理の各工程において用いることもできる。例えば、溶媒供給ステーションに珪藻土カラムを取りつけられ、溶媒による試料の展開、濃縮、洗浄、及び溶出の各工程において、珪藻土カラムへ導入する溶媒の温度及び導入量を自動的に制御することもできる。さらにこの自動送液システムは、ダイオキシン類分析前処理方法の他にも、各種微量分析試料の前処理に適用可能である。

【0038】

【好ましい実施形態の説明】以下、添付図面を参照しながら本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0039】図2は、本発明のダイオキシン類分析用前処理カラム(以下、「前処理カラム」と略す)の構成を概略的に示す断面図である。前処理カラム1は、硫酸処理した珪藻土層を含む珪藻土カラム10と、珪藻土カラム10の下流側に脱着可能に接続されている活性炭カラム20と、を含む。珪藻土カラム10は、開放上端10aと、活性炭カラム20に脱着可能な接続用の流体連通口12を有する下端部10bと、を有する円筒状カラムである。珪藻土カラム10には、上流側すなわち開放上端10a側から、シリカゲル層14、硫酸珪藻土層16及び極性担体層18が充填されている。

【0040】本発明の前処理カラムの調製方法を説明する。ここでは、市販の珪藻土カラム(CE-1010:カラム容積10mL;珪藻土充填量7g)を利用して珪藻土カラム10を作製し、市販の活性炭カラム(Carboxen 1016)を活性炭カラムとして利用する場合について説明する。

【0041】図3に示すように、まず、珪藻土カラム10と活性炭カラム20とを接続する。次に、珪藻土カラム10に硫酸8mLを添加して15分間放置して、硫酸珪藻土層16を形成させる。このとき、珪藻土カラム10に充填されている珪藻土層の最下部には硫酸が到達しないので、珪藻土カラム10内の珪藻土層下部は硫酸未処理のまま残る。この硫酸が到達せずに残った未処理珪藻土層を極性担体層18として使用する。次に、硫酸珪藻土層16の上部にシ

リカゲル2gを敷いて、シリカゲル層14を形成させる。  
 【0042】次に、本発明の前処理カラムを使用してダイオキシン類含有被分析試料の前処理方法を説明する。  
 図4に示すように、カラム下部から極性担体層18、硫酸珪藻土層16及びシリカゲル層14がこの順番で充填されている珪藻土カラム10（カラム保持容量10mL）と活性炭カラム（Carboxen 1016）20とが連結してなる本発明のダイオキシン類分析用前処理カラムに、n-ヘキサン10mLを導入してn-ヘキサンによる洗浄を行った後、珪藻土カラム10にシリカゲル層14の上からダイオキシン類含有被分析試料1mLを添加し、次にジクロロメタン洗液5mLを添加し、15分間放置する。次に、珪藻土カラム10にシリカゲル層14の上からn-ヘキサン10mLを添加し、さらにn-ヘキサンとジクロロメタンとの混合液（2：1）30mLを流す。こうして、被分析試料中の夾雑物を珪藻土カラム10内のシリカゲル層14、硫酸珪藻土層16及び極性担体層18に保持させて分離し、ダイオキシン類を活性炭カラム20に溶出させる。次に、活性炭カラム20を珪藻土カラム10から取り外して逆さまにして、図5に示す自動送液システム100の副導管150のルーアー□アダプタ150に取り付ける。自動送液システム100を作動させて、溶媒槽110からの溶媒（トルエン）を主導管130を介して副導管140に分液させ、恒温槽120（75℃）内部で副導管140内を溶媒（トルエン）が流通する間にトルエンのみを加熱して温トルエン（約50℃）とし、この温トルエンをルーアー□アダプタ150を介して、活性炭カラム20に供給して、活性炭カラム

表1 珪藻土カラム条件

| 硫酸添加量  | 10mL | 8mL  | 6mL  | 4mL  | 2mL  | 0mL   |
|--------|------|------|------|------|------|-------|
| IS 添加量 | 10μL | 20μL | 30μL | 50μL | 80μL | 100μL |

【0046】調製した珪藻土カラムに、内標準物質（<sup>13</sup>Cラベル化された2378塩素置換ダイオキシン類）単独、及び内標準物質を2～4ng添加したダイオキシンの実試料（ダイオキシン類含有土壌30gあるいは60gを高温高压溶媒抽出装置（ASE300：ダイオネクス社製）を用いてトルエン抽出したもの）を自然滴下でロードし、図4に示す手順で前処理を行った後、PolarisQ（イオントラップ型質量分析計：米国サーモ・フィニガン社製）を用いて測定した。

【0047】図6に、硫酸添加量と処理後の珪藻土カラムとの関係を示す。被分析試料中の夾雑物は硫酸と反応して黒色に変色する。よって、図6から硫酸と反応した※

表2 硫酸添加量の変化に伴う試料液の色度変化

| 硫酸添加量 (mL)            | 0                 | 2   | 4   | 6  | 8  | 10 |
|-----------------------|-------------------|-----|-----|----|----|----|
| 色度                    | >20 <sup>1)</sup> | 20  | 20  | 10 | 5  | 7  |
| 回収率 (%) <sup>2)</sup> | 100               | 108 | 102 | 95 | 83 | 81 |

1) 本JIS法は、黄色～淡黄色の試料にのみ適用可能。硫酸無添加の試料は焦茶色であったため、最大色度20以上とした。

2) 回収率は、硫酸無添加の試料の回収率を100%として相対値で示す。

【0050】表2から、硫酸添加量0mLから8mL（カラム保持容量の0%から80%まで）までは、硫酸添加量の増加

＊ム20からダイオキシン類分析に供する被分析試料を抽出させる。

【0043】以下、実施例により、本発明を更に具体的に説明する。

【0044】

【実施例】ダイオキシン類含有被分析試料の調製

都市型河川河口域から採取したダイオキシン濃度が約150pg-TEQ/gの底質試料から、高温高压溶媒抽出装置（ASE300：ダイオネクス社製）を用いて、195℃で2000psiの圧力を15分間与える工程を2回繰り返す、各30gの底質試料を抽出して、トルエン100mL程度の粗抽出液を作製した。この粗抽出液をロータリーエバポレータで約1mLになるまで濃縮して濃縮液を作製した。次に、粗抽出液が含まれていたフラスコをジクロロメタン5mLを用いて洗浄し、洗浄液を作製した。この濃縮液と洗浄液とを合わせて標準試料とした。以下の実施例においては、ここで調製したダイオキシン類含有被分析試料を実試料として用いた。

実施例1：珪藻土層への硫酸添加量の影響

保持容量10mLの市販珪藻土カラム（商品名：CE-1010（10mL容量）、製造販売者名：Varian社、珪藻土7g）に、表1に示す条件で硫酸を添加して本発明の珪藻土カラムを調製し、内標準物質（IS）を導入した。

【0045】

【表1】

30※夾雑物の大半が硫酸珪藻土層に保持されていることがわかる。硫酸添加量が10mL（珪藻土カラムの硫酸保持容量の100%）の場合には、硫酸が完全に珪藻土層を通過して珪藻土カラム下部にまで達していることがわかる。これは、本来ならば硫酸珪藻土層に保持されるべき夾雑物の一部が硫酸と一緒に珪藻土層を通過してしまい、リークしていることを表す。

【0048】硫酸添加量の変化に伴う試料液の色の変化をJIS K0101-10.1に従って色度を測定した。結果を表2に示す。

【0049】

【表2】

に応じて試料液の着色が薄くなり、硫酸添加量が10mL（カラム保持容量の100%）になると、再び試料液の着色

が濃くなることわかる。これより、硫酸添加量が増えるほど、珪藻土層の夾雑物の保持容量が増加するが、硫酸添加量が珪藻土カラムの保持容量の100%に達すると、珪藻土層の保持容量よりもリーク量が大きくなるといえる。また、硫酸添加量が6mLの場合には色度が高く、十分に硫酸処理がなされていないことを示す。

【0051】以上の実験結果より、珪藻土層に夾雑物を保持するために、保持容量10mLの珪藻土カラムを用いる場合には、6mLよりも多く10mLよりも少ない量の硫酸を珪藻土層に添加することが好ましく、7～9mL、特に8mL

が最適な添加量であることがわかる。  
実施例2：珪藻土カラムへのシリカゲル添加量の影響  
実施例1より、硫酸添加量が8mLの場合に最適な夾雑物の保持容量が得られることがわかったので、表1の珪藻土カラム条件のうち、硫酸添加量8mL、内標準物質添加

表3 シリカゲル添加量の変化に伴う試料液の色度変化

| シリカゲル添加量 | 2g | 4g | 6g |
|----------|----|----|----|
| 色度       | 2  | 2  | 4  |

【0054】目視により、シリカゲル添加量が2gの場合には、処理液の着色が薄い、シリカゲル添加量が増加するにつれて、処理液の色が濃くなることが観察された。これは、シリカゲル添加量が増加するとシリカゲル層の厚さが増加するので、試料がシリカゲル層の下流側にある硫酸珪藻土層に到達するまでに時間がかかり、硫酸珪藻土層との接触時間が短くなり、試料中の夾雑物が硫酸珪藻土層中に十分に保持されなかったためと考えられる。

【0055】この実験結果より、保持容量10mLの珪藻土カラム（硫酸添加量80%）を用いて、現在の濃縮・洗浄方法（濃縮トルエン溶液1mL+洗浄ジクロロメタン溶液5

実施例3：珪藻土カラムの回収率への影響

表4：硫酸添加量の変化に伴う回収率の変化

| 硫酸添加量  | 10mL | 8mL | 6mL | 4mL  | 2mL  | 0mL  |
|--------|------|-----|-----|------|------|------|
| IS 回収率 | 81%  | 83% | 95% | 102% | 108% | 100% |

【0058】表4から、カラム保持容量10mLの珪藻土カラムに対して2mLの硫酸を添加した場合に最も回収率が高く、2mLよりも硫酸添加量が増えるほど、回収率が低下することがわかる。これは、珪藻土層への硫酸コーティングにばらつきがあり、コーティングが薄い部分ほど溶媒の通り道が広くなり（チャンネル）、流速が早くなると溶媒の大部分がチャンネルを通過するようになるため、試料との接触効率が悪くなり回収率が低下するためであると考えられる。

【0059】そこで、流速を制御し、溶媒を十分に拡散★

表5：シリカゲル層が回収率に与える効果

| シリカゲル添加量 | 0g     | 2g     | 4g     |
|----------|--------|--------|--------|
| 溶媒滴下時間   | 2.7min | 8.2min | 9.2min |
| IS 回収率   | 83%    | 112%   | 112%   |

＊量20μLの場合について、シリカゲル添加量の影響を調べた。

【0052】実施例1で調製した珪藻土カラムの硫酸珪藻土層（硫酸添加量：カラム保持容量の80%）の上に、シリカゲル（2g、4g及び6g）を加えて、シリカゲル層を積層させた。各珪藻土カラム（硫酸+シリカゲル）に、内標準物質を2～4ng添加したダイオキシンの実試料（ダイオキシン類含有土壌30gあるいは60gを高温高圧溶媒抽出装置（ASE300：ダイオネクス社製）を用いてトルエン抽出したもの）を自然滴下でロードし、図4に示す前処理を行い、シリカゲル添加量の変化に伴う試料液の色の

変化をJIS K0101-10.1に従って色度を測定した。結果を表3に示す。

【0053】

【表3】

＊硫酸添加量の変化に伴う回収率の変化を調べた。

【0056】NK-LCS-AD PCDD/Fs standard mixture (Wellington Laboratories, Ontario, Canada) を標準試料として使用した。硫酸を添加していない珪藻土カラムをn-ヘキサン10mLで洗浄し、標準試料1mLを添加した後15分間放置し、次にn-ヘキサン10mLを添加し、続いてn-ヘキサン-ジクロロメタン（2：1）30mLを流して溶出させた液をPolaris Qで測定し、クロマトグラム上の面積値を求め、この面積値を回収率100%とした。次に、硫酸を表4に示すように変化させて珪藻土カラムに添加したものを

【0057】

【表4】

★させることでチャネリングを抑制し、回収率を向上させることができると考え、硫酸珪藻土層の上流側にシリカゲル層を設けて、流速を抑制した場合の回収率に与える効果を調べた。

【0060】下記表5に示すようにシリカゲルを珪藻土層の上に積層させた以外は、上述の硫酸添加量の変化に伴う回収率の変化を測定した場合と同様に行い、回収率を求めた。結果を表5に示す。

【0061】

【表5】

【0062】表5から、硫酸珪藻土層の上流側にシリカゲル層（添加量2g～4g）を設けて、試料の流速を抑制することにより、回収率を向上させることができることがわかる。

#### 実施例4：珪藻土カラムのクロマトグラムへの影響

本発明の珪藻土カラムにおいて、シリカゲル層がクロマトグラムに与える影響について考察する。実施例3で得られたクロマトグラムを図6に示す。シリカゲル無添加の場合、他と比較して相対的に2.5倍に希釈した状態でも不純物の影響が大きく、ピークが割れてしまい、定量が行えなかった。シリカゲルを2g添加した場合には、非常にきれいなクロマトグラムが得られた。シリカゲルを6g添加した場合には、ノイズによるバックグラウンドレベルが上がってしまった。これは、試料が硫酸珪藻土層に接触する時間が短くなったためと考えられる。この実験結果より、シリカゲルを2g添加した場合に、最も精製効率が良くなることがわかる。

#### 実施例5：活性炭カラムの回収率への影響

\* 実施例1で用いた市販の珪藻土カラム（商品名：CE-1010（10mL容量）、製造販売者名：Varian社、珪藻土7g）に硫酸8mLを添加して、硫酸珪藻土層を形成させ、次に、硫酸珪藻土層の上部にシリカゲル2gを均一に敷いてシリカゲル層を積層させ、本発明の珪藻土カラムを2本調製した。

【0063】調製した本発明の珪藻土カラムの各々に、本発明の活性炭カラムとしての物性を有する市販の活性炭カートリッジ（Carboxen 1016:Sigma-Aldrich製）を接続させたものを本発明の前処理カラムとし、従来の方法で用いられている市販の活性炭カートリッジ（Carboxen 1000:Sigma-Aldrich製）を接続させたものを対照前処理カラムとした。ここで用いた活性炭カートリッジカラムは、いずれもグラファイトカーボンを200mg充填したカートリッジ容量1mLの活性炭カートリッジであり、両者の物性の相違を表6に示す。

【0064】

【表6】

表6：活性炭カートリッジカラムの物性

|               | ポアサイズ割合(cc/g) |      |       | BET 表面積 m <sup>2</sup> /g | 粒子径   |         | 密度 g/mL |
|---------------|---------------|------|-------|---------------------------|-------|---------|---------|
|               | マイクロポア        | メソポア | マクロポア |                           | メッシュ  | μm      |         |
| Carboxen 1000 | 0.44          | 0.16 | 0.25  | 1200                      | 60/80 | 177-250 | 0.48    |
| Carboxen 1016 | -             | 0.34 | -     | 75                        | 60/80 | 177-250 | 0.52    |

【0065】本発明及び対照の前処理カラムに、トルエン1mLで希釈した内標準物質（<sup>13</sup>Cラベル化された2378塩素置換ダイオキシン類）100μLをロードし、ジクロロメタン5mLで展開した。次に、対照前処理カラムを、n-ヘキサン30mLで洗浄し、次いで、n-ヘキサン：ジクロロメタン混合溶液（2：1）30mLで洗浄した（洗液）。一方、本発明の前処理カラムを、n-ヘキサン30mLで洗浄し、次いで、n-ヘキサン：ジクロロメタン混合溶液（3：1）30mLで洗浄し、さらにn-ヘキサン：ジクロロメタン混合溶液（1：1）30mLで洗浄した（洗液）。

【0066】本発明の前処理カラム及び対照前処理カラムともに、珪藻土カラムから取り外し、上下逆さにして、定流量ポンプを用いて、内標準物質が全く検出されなくなるまで、50℃に加熱したトルエンを流し続けた。

溶出した全量を回収率100%とし、トルエン添加量30mL ※

表7 各画分中のダイオキシン類の回収率

| ダイオキシン類     |            | 各画分における回収率(%) |                 |                 |                  | 99%回収に必要なトルエン量 (mL) |
|-------------|------------|---------------|-----------------|-----------------|------------------|---------------------|
|             |            | 洗液            | トルエン<br>60mL 添加 | トルエン<br>90mL 添加 | トルエン<br>120mL 添加 |                     |
| 本<br>発<br>明 | T4-P5CDD/F | 0             | 99              | <1              | <1               | 60                  |
|             | H6CDD/F    | 0             | 99              | <1              | <1               | 60                  |
|             | H7-O8CDD/F | 0             | 99              | <1              | <1               | 60                  |
| 対<br>照      | T4-P5CDD/F | 0             | 81              | 5               | 3                | 250                 |
|             | H6CDD/F    | 0             | 73              | 6               | 4                | 350                 |
|             | H7-O8CDD/F | 0             | 69              | 7               | 4                | 350                 |

【0069】図7及び表7から、本発明の前処理カラムの場合には、99%以上の回収率を達成するために必要な

※ごとの溶出液画分をPolarisQを用いて分析し、回収率を求めた。結果を図7に示す。

【0067】図7(a)は、本発明の前処理カラムによる回収率の変動を示し、図7(b)は対照前処理カラムによる回収率の変動を示す。図中、T4-P5CDD/Fは4塩素化及び5塩素化のダイオキシン、H6CDD/Fは6塩素化のダイオキシン及びジベンゾフラン、H7-O8CDD/Fは7塩素化及び8塩素化のダイオキシン並びに7塩素化及び8塩素化のジベンゾフラン、Non-ortho PCBはオルト位に塩素が未置換のコプラナーPCB、Mono-ortho PCBはオルト位に塩素が1つだけ置換しているコプラナーPCBを示す。各画分中のダイオキシン類の回収率を表7に示す。

【0068】

【表7】

温トルエン添加量は60mLであるのに対して、対照前処理カラムの場合には、250mL以上を要することがわかる。

対照前処理カラムでは、トルエン60mL添加により、約70%以上の回収率を示すが、その後の回収率は極端に低下する。これは、最初に活性炭表面のメソポアに吸着されていたダイオキシン類が溶出し、メソポア層よりも深い部位にあるミクロポアに吸着されているダイオキシン類の溶出効率が低いためであると考えられる。一方、本発明の前処理カラムでは、活性炭表面ばかりでなく、表面直下にもメソポア層が存在するので、表面のメソポアに吸着されていたダイオキシン類の溶出の後、表面直下のメソポア層に吸着されていたダイオキシン類の溶出が進行し、溶出効率が高いため、非常に少量のトルエンで99%以上のダイオキシン類が溶出したと考えられる。

【0070】

【発明の効果】本発明によれば、迅速、簡便且つ安価に、再現性よく、高い回収率を維持しながら、ダイオキシン類分析に供する分析試料の効果的な前処理方法を実施するためのダイオキシン類分析用前処理カラムが提供される。

【0071】本発明のダイオキシン類分析用前処理カラムを利用することで、迅速、簡便且つ安価に、再現性よく、高い回収率を維持しながら、ダイオキシン類分析に供する分析試料の効果的な前処理方法を実施することができる。

【0072】また、本発明のダイオキシン類含有被分析試料の前処理カラムを用いる前処理方法によれば、JIS K0311に規定されている煩雑なシリカゲルカラムクロマトグラフ操作又は多層シリカゲルクロマトグラフ操作による硫酸処理及びアルミナカラムクロマトグラフ操作に代えて、非常に容易に前処理を行うことができ、各種異性体に対しても有効であるから、ダイオキシン類の抽出と精製工程を減少させることができ、非常に時間のかかるダイオキシン類分析前処理工程を非常に短時間で完了\*

\*できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、JIS K0311(1999)によるダイオキシン類分析用前処理のフローチャートである。

【図2】図2は、本発明のダイオキシン類分析用前処理カラムの構成を概略的に示す断面図である。

【図3】図3は、本発明のダイオキシン類分析前処理カラムの調製方法のフローチャートである。

【図4】図4は、本発明のダイオキシン類分析用前処理方法のフローチャートである。

【図5】図5は、本発明のダイオキシン類含有被分析試料の前処理カラムを用いて、ダイオキシン類分析前処理工程を行う際に用いる自動送液システムの概略構成を示す模式図である。

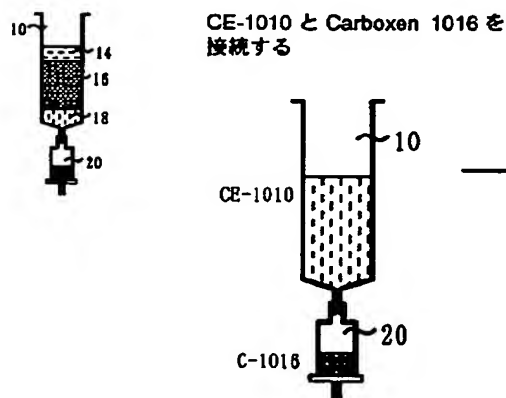
【図6】図6は、本発明のダイオキシン類分析用前処理カラムに用いる珪藻土カラムへのシリカゲル添加量の変化に対するクロマトグラムチャートである。

【図7】図7(a)は、本発明の前処理カラムによる回収率の変動を示し、図7(b)は対照前処理カラムによる回収率の変動を示すグラフである。

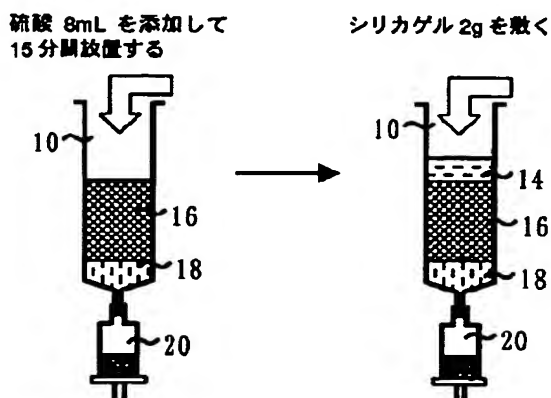
【符号の説明】

- 10: 珪藻土カラム
- 14: シリカゲル層
- 16: 硫酸珪藻土層
- 18: 極性担体層
- 20: 活性炭カラム
- 110: 溶媒槽
- 120: 恒温槽
- 130: 主導管
- 132: スプリッタ
- 140: 副導管
- 150: ルアー□アダプタ

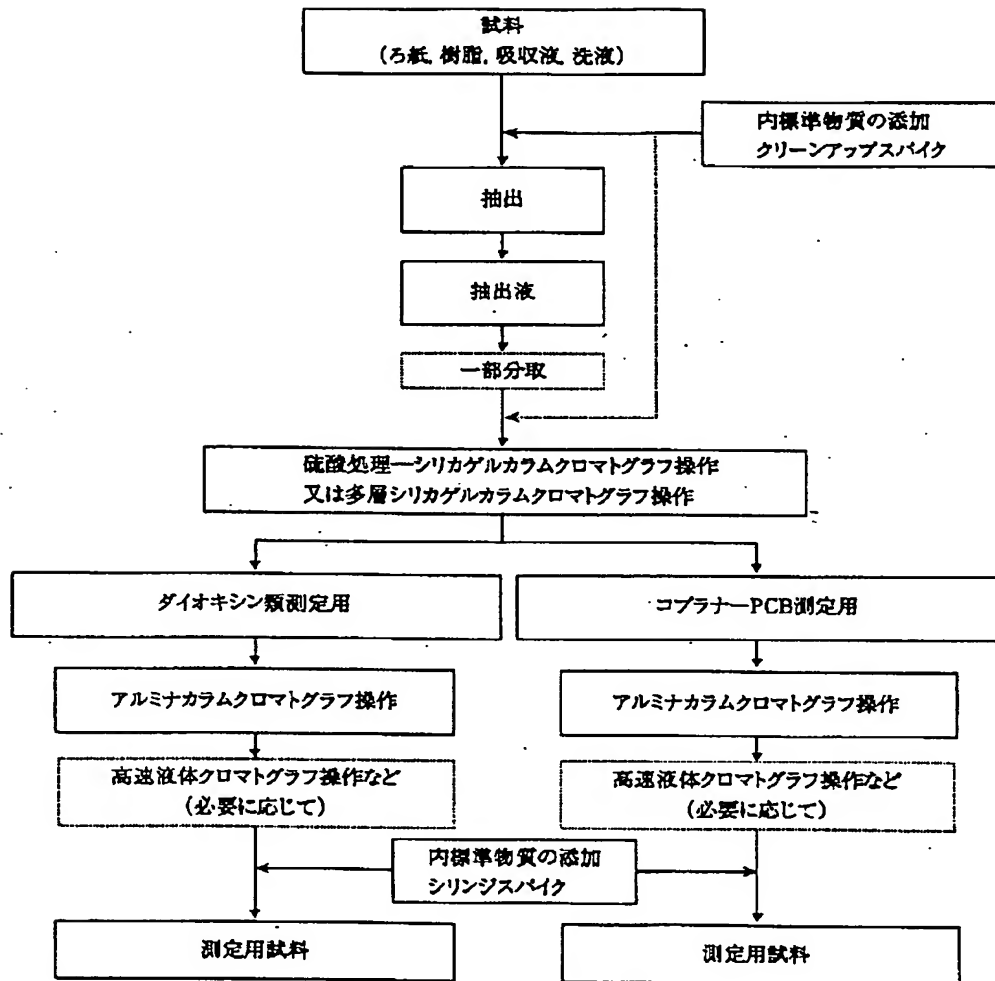
【図2】



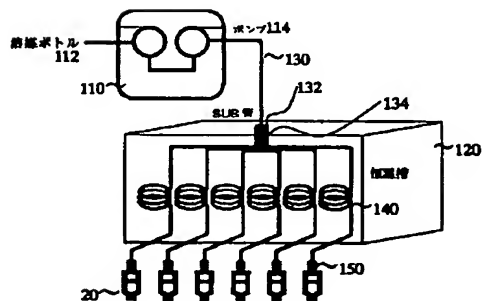
【図3】



【図1】



【図5】



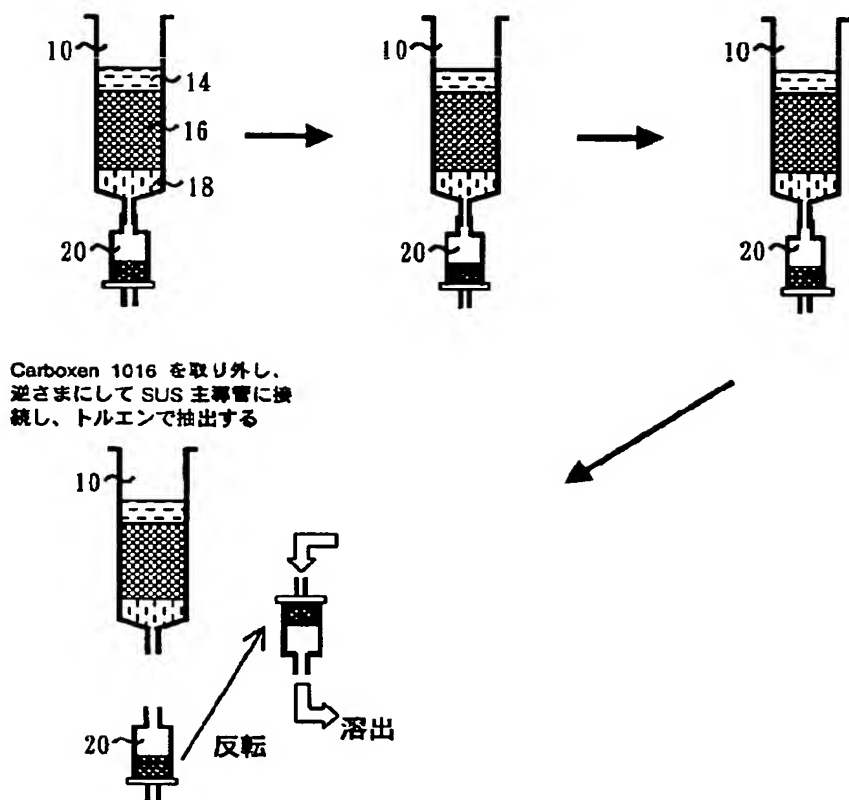


〔図4〕

n-ヘキサン 10mL で洗浄する

試料抽出液 1mL に続きジクロロメタン洗液 5mL を添加した後 15 分間放置する

n-ヘキサン 10mL に続き 2:1 n-ヘキサンジ-クロロメタン 30mL を流して溶出する



【図6】

シリカゲル添加量： 0 g (2.5 倍希釈)

2 g

6 g

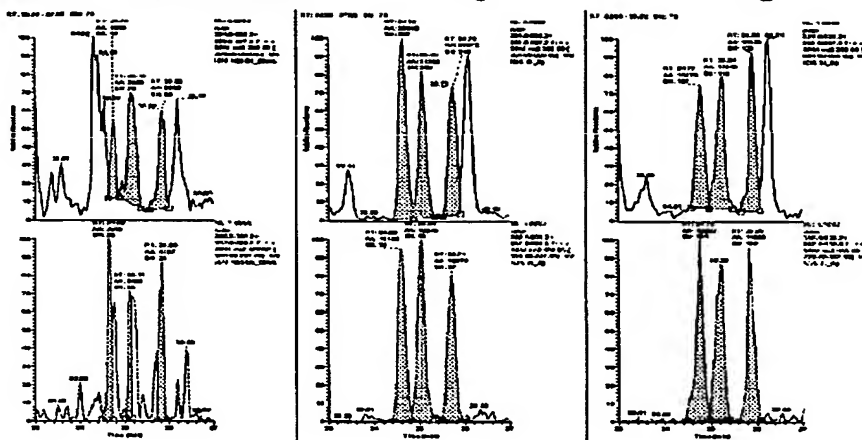


図6. シリカゲル層がクロマトグラム(H6CDD)に与える影響

【図7】

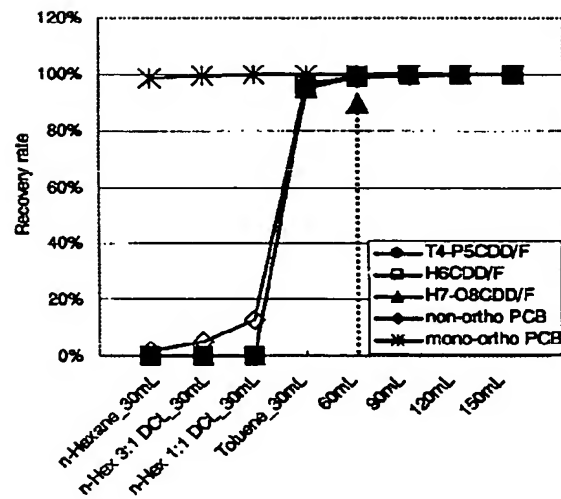


図7a 本発明の前処理カラムによるPCDD/F及びPCBの回収率

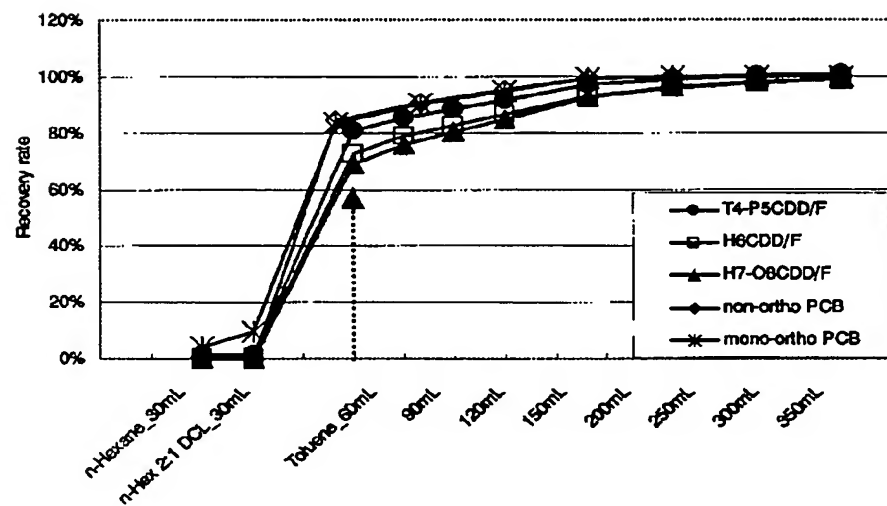


図7b 対照前処理カラムによるPCDD/F及びPCBの回収率

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>

B 0 1 J 20/28

G 0 1 N 1/10

30/04

30/48

識別記号

F I

B 0 1 J 20/28

G 0 1 N 1/10

30/04

30/48

テーマコード(参考)

Z

A

P

C

G

J

(17)

特開2003-344378

K

Y

// G 0 1 N 30/26

30/26

A

30/72

30/72

A

F ターム(参考) 2G052 AA20 AB11 AC03 AD14 AD26

AD46 EB11 ED01 ED07 ED11

FC06 FC11 FD09 GA24 GA27

HC28 JA07

4D017 AA01 BA04 CA03 CA05 CA06

CB01 DA02 EA01 EB01

4G066 AA05B AA22B AA70B BA23

BA25 DA08 FA12

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ BLACK BORDERS

☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☒ FADED TEXT OR DRAWING

☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☒ GRAY SCALE DOCUMENTS

☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**